

1/9/1

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI

(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

009839816

WPI Acc No: 1994-119672/199415

XRAM Acc No: C94-055392

Carrier able to bind both nucleic acid and derived protein - providing simultaneous purificn. and isolation of both in evolutive bio-polymer optimisation studies

Patent Assignee: DIAGEN INST MOLEKULARBIOLOGISC (DIAG-N); EVOTEC BIOSYSTEMS GMBH (EVOT-N); DIAGEN INST MOLEKULAR BIOLOGISCHE (DIAG-N)

Inventor: EIGEN M; HENCO K

Number of Countries: 019 Number of Patents: 007

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
DE 4237381	C1	19940428	DE 4237381	A	19921105	199415 B
WO 9410572	A1	19940511	WO 93EP3075	A	19931103	199420
EP 667960	A1	19950823	WO 93EP3075	A	19931103	199538
			EP 94900090	A	19931103	
JP 8505222	W	19960604	WO 93EP3075	A	19931103	199648
			JP 94510725	A	19931103	
EP 667960	B1	19970402	WO 93EP3075	A	19931103	199718
			EP 94900090	A	19931103	
DE 59306062	G	19970507	DE 506062	A	19931103	199724
			WO 93EP3075	A	19931103	
			EP 94900090	A	19931103	
US 5849545	A	19981215	WO 93EP3075	A	19931103	199906
			US 95432121	A	19950626	
			US 97834834	A	19970410	

Priority Applications (No Type Date): DE 4237381 A 19921105

Cited Patents: 02Jnl.Ref; DD 274676; DE 3717209; DE 3717210; DE 4112440; WO 9218645

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
DE 4237381	C1		4	C12N-011/00	
WO 9410572	A1			G01N-033/543	
				Designated States (National): JP US	
				Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE	
EP 667960	A1	G		G01N-033/543	Based on patent WO 9410572
				Designated States (Regional): AT BE CH DE DK FR GB IT LI NL SE	
JP 8505222	W	12		G01N-033/566	Based on patent WO 9410572
EP 667960	B1	G	7	G01N-033/543	Based on patent WO 9410572
				Designated States (Regional): AT BE CH DE DK FR GB IT LI NL SE	
DE 59306062	G			G01N-033/543	Based on patent EP 667960
					Based on patent WO 9410572
US 5849545	A			C12P-019/34	Cont of application WO 93EP3075
					Cont of application US 95432121

Abstract (Basic): DE 4237381 C

Carrier material has simultaneously at least 2 different binding activities for specific genotypic substances (I) and phenotypic substances (II). Partic. (I) and (II) bind to separate areas on the carrier surface, or both to the same areas. The binding areas are spaced 10 nm to 100 micron apart. Partic. (I) is nucleic acid and (II) the corresponding protein or peptide.

USE/ADVANTAGE - The carriers are used for evolutive optimisation of biopolymers (esp. genes and their products). Esp. a gene is subjected to mutation, expressed and both expressed protein and gene bound to the carrier (for subsequent analysis). The carrier provides simultaneous purificn. of (I) and (II). It can be used (in conjunction with a culture medium) to provide localised growth of a cell colony and also to provide a gene amplification system.

Dwg.0/0

Abstract (Equivalent): EP 667960 B

A substrate material having at least two simultaneous binding properties for the respective specific binding of nucleic acids and

their expression products wherein particular surface areas of the substrate material are capable of binding said nucleic acids whereas said expression products are bound by locally separated surface areas of the substrate material, and one area has affinity properties and another area has ion-exchanging or affinity properties, or one and the same area on the substrate material binds both nucleic acids and expression products and one portion of the area has affinity properties and another portion of the same area has ion-exchanging or affinity properties.

Dwg. 0/0

Title Terms: CARRY; ABLE; BIND; NUCLEIC; ACID; DERIVATIVE; PROTEIN; SIMULTANEOUS; PURIFICATION; ISOLATE; BIO; POLYMER; OPTIMUM; STUDY

Derwent Class: B04; D16

International Patent Class (Main): C12N-011/00; C12P-019/34; G01N-033/543; G01N-033/566

International Patent Class (Additional): B01J-041/00; C07K-003/18; C07K-017/00; C07K-017/02; C12N-011/02; C12N-015/09; C12N-015/10;

C12N-015/11; C12Q-001/68

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-C01; B04-E01; B04-G01; B04-N02; B04-N04; B05-A03B; B05-B02C; B06-F03; B10-B02J; D05-A01A; D05-H10

Chemical Fragment Codes (M1):

01 M423 M424 M720 M903 N104 N131 N135 N136 N161 N164 Q233 V752 V753

02 M423 M430 M781 M782 M903 N105 Q233 Q508 V500 V540 V793

?



4

19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Patentschrift
10 DE 42 37 381 C 1

21 Aktenzeichen: P 42 37 381.6-41
22 Anmeldetag: 5. 11. 92
43 Offenlegungstag: —
45 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 28. 4. 94

(1)

57 Int. Cl.⁵:
C 12 N 11/00
C 12 N 15/10
C 07 K 17/00
C 07 K 3/18
B 01 J 41/00
C 12 N 11/02
C 07 K 17/02
// (C12N 11/00, C12R
1:19) (C12N 1/21,
C12R 1:19) (C12N
11/00, C12R 1:125)
(C12N 11/00, C12R
1:91) C12N 5/10,
15/70

DE 42 37 381 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:

Diagen Institut für molekularbiologische Diagnostik
GmbH, 40724 Hilden, DE

74 Vertreter:

von Kreisler, A., Dipl.-Chem.; Selting, G., Dipl.-Ing.;
Werner, H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Fues, J.,
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Böckmann gen. Dallmeyer,
G., Dipl.-Ing.; Hilleringmann, J., Dipl.-Ing.; Jönsson,
H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Meyers, H., Dipl.-Chem.
Dr.rer.nat.; Weber, T., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.,
Pat.-Anwälte, 50667 Köln

72 Erfinder:

Henco, Karsten, 4006 Erkrath, DE; Eigen, Manfred,
3400 Göttingen, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht gezogene Druckschriften:

DE 32 11 309

64 Trägermaterial zur simultanen Bindung genotypischer und phänotypischer Substanzen

57 Es wird ein Trägermaterial beschrieben, das simultan
sowohl genotypische Substanzen als auch phänotypische
Substanzen binden kann. Die entsprechenden Areale, die
oberflächenmodifizierte Stoffe, wie Anionenaustauscher
und/oder Affinitätsliganden aufweisen kann, bindet simultan
beispielsweise Nukleinsäuren und Proteine oder Peptide. Die
beschriebenen Trägermaterialien können in Verfahren zur
evolutiven Optimierung und Biopolymeren eingesetzt wer-
den, wobei gleichzeitig Genotyp und Phänotyp gebunden
werden, um diese einer weiteren Analyse zuzuführen.

DE 42 37 381 C 1

Die Erfindung betrifft ein Trägermaterial sowie ein Verfahren zur evolutiven Optimierung von Biopolymeren.

Die evolutive Biotechnologie ist eine neuartige Technik, mit der quasi im Reagenzglas die Evolution nachgestellt wird, um allein durch Replikationsmechanismen mutierte und optimierte Nukleinsäurestrukturen zu erhalten. Die Vermehrung der Nukleinsäure erfolgt mit entsprechenden Enzymsystemen, wie Polymerasen, deren natürliche Ablesefehlerhäufigkeit dazu benutzt wird, eine Quasi-Spezies-Verteilung zu schaffen ausgehend von einem bestimmten Nukleinsäuremolekül oder Ensemble. Genauer über diese Technik wird in der DE-PS 41 12 440 C2 beschrieben.

Gemeinsam ist den Techniken der evolutiven Biotechnologie jedoch, daß eine große Anzahl von Proben parallel bearbeitet werden muß, um den Zeitrahmen der evolutiven Optimierung technisch einsetzbar zu gestalten. So wird angestrebt, beispielsweise einen bestimmten Phänotyp, beispielsweise ein Enzym, über Mutageneseverfahren des kodierenden Gens systematisch zu optimieren. Ein solcher Prozeß, der nach dem Verfahren des sogenannten irrationalen oder evolutiven Designs arbeitet, verlangt also ein Durchmustern der erhaltenen Phänotypen auf der Basis bestimmter erwünschter Funktionen. Wenn ein erwünschter Phänotyp gefunden wird, gilt es, unmittelbar einen Zugriff auf das kodierende Gen, also die entsprechende Nukleinsäure, zu haben. Indirekte Wege, um zur kodierenden Sequenz zu gelangen, beispielsweise über eine Proteinsequenzanalyse und Transferierung in die entsprechende Gensequenz, sind technisch zwar möglich, jedoch aufgrund der recht aufwendigen Technik in der Praxis kaum durchführbar.

Es besteht zur technisch vernünftigen Durchführung der evolutiven Biotechnologie auch die Notwendigkeit, parallel für eine Vielzahl einzelner, transformierter Zellen eine lokal fixierte spezifische Reinigung von Phänotyp und Genotyp in einem Trennprozeß durchzuführen, d. h. etwa 106—108 Experimente parallel durchzuführen.

Der Erfindung liegt mithin das technische Problem zugrunde, ein System zur Verfügung zu stellen, das eine gemeinsame Reinigung eines Genotypen und eines Phänotypen, beispielsweise eines Proteins und seines entsprechenden kodierenden Gens, erlaubt und damit ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, das eine evolutive Optimierung von Biopolymeren erlaubt. Dieses Trägersystem soll in Kombination mit einem Wachstumsmedium gleichzeitig ein lokalisiertes Wachstum einer Zellkolonie erlauben oder ein entsprechendes enzymatisches Genamplifikationssystem einsetzbar gestalten, dessen Genotyp mit dem Phänotyp lokal gekoppelt bleibt und in einem lokalisierten Element verbleibt ohne sich mit anderen Geno- oder Phänotypen zu vermischen.

Gelöst wird dieses Problem durch ein Trägermaterial, das simultan mindestens zwei Bindeeigenschaften aufweist zur jeweiligen spezifischen Bindung genotypischer Substanzen und phänotypischer Substanzen. Dadurch wird vermieden, daß sich verschiedene Gene oder Genotypen ohne weiteres miteinander vermischen und andererseits Enzymsysteme, die als Phänotypen aus den Genotypen (Informationsträgern) hervorgegangen sind, mit ihren jeweiligen Genen assoziiert bleiben und somit grundsätzlich isolierbar sind. Das Trägersystem zeichnet sich dadurch aus, daß das erfindungsgemäße Trägermaterial an bestimmte Areale seiner Oberfläche jeweils

die genotypischen Substanzen binden kann, während die phänotypischen Substanzen von anderen Arealen auf der Oberfläche dieses Trägermaterials gebunden werden. In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Trägermaterials können als genotypische Substanzen beispielsweise Nukleinsäuren und als phänotypische Substanzen beispielsweise Proteine oder Peptide gleichzeitig gebunden werden.

Das erfindungsgemäße Trägermaterial besteht aus Arealen, die Geno- und/oder Phänotyp zu binden vermögen und einen Abstand von $< 1.000 \mu\text{m}$, vorzugsweise $< 100 \mu\text{m}$ voneinander haben, wobei der Abstand 10 nm nicht unterschreiten sollte. Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Natur des Geno- und Phänotyps weisen die Areale vorzugsweise gleichzeitig zwei verschiedene Bindeeigenschaften auf, die jeweils spezifisch für die genannten Stoffklassen Genotyp und Phänotyp sind.

Die Areale können insbesondere Ionenaustauscher-, Affinitätseigenschaften wie hydrophobe Wechselwirkungseigenschaften oder Komplexbildungseigenschaften oder Kombinationen davon aufweisen. So ist es beispielsweise möglich, daß bei Verwendung von Arealen mit Affinitätseigenschaften der Genotyp von bestimmten Affinitätsliganden in den entsprechenden Arealen erkannt wird, wohingegen der Phänotyp mit einem anderen Affinitätsliganden, der ebenfalls in den entsprechenden Arealen vorliegt, in Wechselwirkung treten kann. Die Moleküle oder Molekülklassen, die jeweils Phänotyp oder Genotyp repräsentieren, können also direkt oder über bestimmte natürliche oder künstlich eingeführte Substituenten an die Trägersoberfläche gebunden werden. Solche Substituenten können Haptene sein oder Biotin oder Avidin oder andere entsprechende Seitenketten, wie bestimmte Oligopeptide. Es kann aber auch vorteilhaft sein, ein Trägermaterial zu verwenden, das in einem Bereich der Areale Affinitätseigenschaften und in anderen Bereichen derselben Areale Ionenaustauschereigenschaften aufweist.

Das erfindungsgemäße Trägermaterial sollte bei mit Affinitätsliganden modifizierter Oberfläche reversible Wechselwirkungen mit den gebundenen Geno- oder Phänotyp erlauben, wodurch die Elution mindestens eines der gebundenen Molekültypen (Geno- oder Phänotyp) ermöglicht wird.

Das Trägermaterial, das die Areale mit den Bindeeigenschaften für Geno- und Phänotyp besitzt, ist vorzugsweise auf oder in einer Matrix wie einer Membran oder einem Membranverbund, einer Fläche, einem Wafer, einer Kapillare, Fasern oder Faserverbund wie gewebten Teilen oder Vliesen oder Kombinationen dieser Gegenstände angeordnet.

Es kann auch vorteilhaft sein, ein Trägermaterial mit Arealen zur Verfügung zu stellen, welches eine Affinität aufweist zu mindestens einem Protein oder Peptid, aber gleichzeitig auch Nukleinsäuren binden kann. Ein solches Material kann praktisch als Hybrid eines Ionenaustauschers und affinitätschromatographischen Materials aufgefaßt werden. Diese gruppenspezifische Bindeeigenschaft für Nukleinsäuren und Proteine ermöglicht also die gleichzeitige Bindung von Nukleinsäuren und Proteinen. Über die spezifische Proteinbindung, die innerhalb eines bestimmten Volumenelements nur in definierter Anzahl erfolgen kann, wird eine Standardisierung ermöglicht.

Vorzugsweise werden als Ionenaustauscher für die Areale des erfindungsgemäßen Trägermaterials großporige oder nichtporige Materialien verwendet, die

noch bei einer Ionenstärke vergleichbar einer 1 M Natriumchloridkonzentration Polyanionen, wie DNA, zu binden vermögen. Insbesondere haben sich großporige Silicagele, wie sie in der DE 32 11 309 beschrieben werden und unter der Bezeichnung QIAGEN im Handel erhältlich sind, bewährt. Affinitätsliganden können beispielsweise Biotinderivate und/oder Streptavidinderivate und/oder Avidinderivate und/oder Nukleinsäuren und/oder Antikörperfragmente und/oder Metallchelate und/oder Peptidliganden sein. Wenn Anionenaustauschermaterialien und Affinitätsmaterialien auf unterschiedlichen partikulären Trägern gekoppelt sind, können beide Partikelsorten innig vermischt werden, so daß beide Bindeeigenschaften in den Arealen des erfindungsgemäßen Trägers zu finden sind. Sind die Areale auf faserigen Trägern angeordnet, so läßt sich der gleiche Effekt auch durch Verweben der Fasern oder gemeinsames Pressen der Fasern erzielen oder auch durch einen engen Zusammenschluß dünner Membranen, von denen zumindest eine Membran für mindestens eine Substanzklasse passierbar sein muß. Es kann jedoch auch ein netzartiger Träger Verwendung finden, der auf beiden Seiten mit jeweils der Bindeeigenschaft für eine Molekülsorte, Geno- oder Phänotyp, aufweist.

Die Verwendung der erfindungsgemäßen Trägermaterialien dient der engen räumlichen Bindung zweier unterschiedlicher Moleküle, wie beispielsweise Proteine und/oder Nukleinsäuren, die auch für die entsprechenden Proteine kodieren können. Besonders vorteilhaft läßt sich der erfindungsgemäße Träger zur evolutiven Optimierung von Biopolymeren einsetzen, insbesondere zur parallelen Analyse unterschiedlicher Genprodukte und ihrer zugehörigen Gene.

Es wird mithin ein Verfahren zur evolutiven Optimierung von Biopolymeren zur Verfügung gestellt, wobei gleichzeitig Genotyp und Phänotyp an ein Trägermaterial bindbar sind und selektiv oder gleichzeitig isoliert werden können.

Das erfindungsgemäße Verfahren läuft vorzugsweise in einem Reaktionsraum ab, in dem der den Genotyp repräsentierende Strukturtyp, beispielsweise eine Nukleinsäure, einer Mutagenese unterworfen wird, dieser Strukturtyp mindestens einem Replikationsschritt unterworfen wird, in einem Expressionssystem exprimiert wird und das entsprechende Expressionsprodukt (Phänotyp), beispielsweise ein Protein, zusammen mit dem Genotyp, beispielsweise einer für das Protein kodierenden Nukleinsäure, an dem Trägermaterial gebunden und auf spezifische optimierte Eigenschaften untersucht wird.

Proteine und/oder Nukleinsäuren lassen sich zu Testzwecken und zur weiteren Bearbeitung nutzen. Als besonders vorteilhaft erweist sich die Kombination von Metallchelatchromatographie auf der Basis von Nickel-NTA-gekoppelten Festphasenträgern, die in der Lage sind, Proteine, mit 6 Histidin in Folge, aus wäßriger Lösung zu extrahieren und komplex zu binden, sowie der Anionenaustauschchromatographie zur Extraktion und Reinigung von Nukleinsäuren. Diese Kombination kann insbesondere auf einer Membran oder einem eindimensionalen Gewebe angeordnet werden, womit sich, in Gegenwart eines entsprechenden Kulturmediums, Zellkolonien lokalisieren und voneinander getrennt kultivieren lassen.

Als Replikationssystem für Gene können jedoch anstelle von Zellen auch zellfreie Systeme, wie enzymatische Amplifikationssysteme, eingesetzt werden. Dabei dienen die Areale des erfindungsgemäßen Trägers prak-

tisch als Kompartimentierungen, in denen Reaktionen zwischen Reaktionspartnern ablaufen können, ohne jeweils mit den anderen Arealen in Wechselwirkung zu treten. Dies wird durch die Beteiligung der Oberflächen in die Reaktionssysteme gewährleistet, wobei Diffusionsprozesse der Makromoleküle unterbunden werden. Es lassen sich also enzymatische Amplifikationen durchführen, ohne daß sich die Amplifikationsprodukte unterschiedlicher Mastersequenzen miteinander vermischen. Dadurch wird die Etablierung einer Quasi-Spezies-Verteilung, begrenzt auf den räumlichen Bereich der entsprechenden Areale, ermöglicht.

Als besonders geeignete Ausführungsform hat sich die folgende Membran bewährt. Auf dieser Membran sind bestimmte Areale vorhanden, die vorzugsweise aus Anionenaustauschermaterial gemäß der DE-A-32 11 309 C2 und Materialien, die mit Nitrilotriessigsäure und/oder den entsprechenden Nickelchelaten dieser Stoffgruppe modifiziert, bestehen. Die Membran wurde nach dem sogenannten enmesh-Verfahren (der Firma 3M, St. Paul, USA) verarbeitet. Das erfindungsgemäße Trägermaterial kann in einem Verfahren eingesetzt werden, was im einzelnen folgendes erlaubt:

- vergleichende Screenings von ungefähr 10^6 – 10^8 Klonen in einem Experiment,
- Phänotyp/Genotyp-Kopplung, d. h. der direkte Zugriff von einem als optimal charakterisierten Protein auf das dementsprechende Gen,
- den quantifizierenden Vergleich enzymatischer Aktivitäten zellständiger oder sezernierter Proteine,
- Einsatz prokaryotischer oder eukaryotischer Zellen,
- automatische Handhabung und Überprüfung auf bestimmte Eigenschaften,
- Standardisierung rekombinanter Proteine,
- Rückgewinnung der spezifisch gebundenen Proteine und Nukleinsäuren sowie
- strategisch geführte evolutionäre Verbesserung von Proteinstrukturen.

Der vorteilhafte Einsatz des erfindungsgemäßen Trägermaterials wird anhand des folgenden Beispiels näher erläutert:

Eine Membran, die mit Kulturmedium gesättigt ist, dient zur Aufnahme rekombinanter Zellen. Nach Transformation kompetenter Escherischia-coli-Zellen und Bestimmung der Konzentration der kompetenten Zellen im Medium, wird die Zellsuspension mit einem Piezo-Pipettierautomaten so auf die Membran aufgetragen, daß statistisch eine Zelle pro Tröpfchen und Flächenelement abgelegt wird. Dieses Flächenelement wird je nach Menge der zu positionierenden Zellen in einem Raster mit einem Abstand von 0,1–1 mm gewählt. So lassen sich 10^6 – 10^8 Zellen pro m^2 positionieren. Als kompetente Zellen kommen auch Bacillus subtilis oder Baculovirus infizierte Insektenzellen in Frage.

Die transformierten kompetenten Zellen werden für eine Zeitdauer von etwa 20 Replikationszyklen kultiviert, so daß in etwa 10^6 Zellen aus einer rekombinanten Zelle hervorgehen. Danach erfolgt die Induktion des rekombinanten Proteins entweder durch chemische oder thermische Induktion unter Weiterführung der Kultivierung für einen Zeitraum von ca. 1–12 Stunden. Die transformierten Nukleinsäuren kodieren in dem entsprechenden Protein für eine Aminosäuresequenz, die 6 Histidinreste aufweist. Sobald diese Proteine se-

zerniert werden, werden die so markierten Proteine durch die Areale mit Nitrilotetraessigsäure modifizierten Oberflächen gebunden. Die entsprechende Nukleinsäure wird ebenfalls nach Freisetzung durch Lösen der Zellen, allerdings auf dem Ionenaustauschermaterial, welches sich in dem Areal des erfindungsgemäßen Trägers befindet, gebunden.

Die Membran wird zur Entfernung von Zelltrümmern und anderen Bestandteilen gewaschen und vermessen.

Das Ionenaustauschermaterial QIAGEN weist den besonderen Vorteil auf, daß es in der Lage ist Nukleinsäuren zu binden, ohne daß auch unter ungünstigen äußeren Bedingungen die gebundene Nukleinsäure abgebaut wird. Die gebundene Nukleinsäure, beispielsweise DNA, wird erst durch Elution mit hohen Salzkonzentrationen freigesetzt.

Nach der Vermessung der Membran werden die Nukleinsäuren der Mutanten mit der höchsten Aktivität aus den entsprechenden Arealen eluiert und können für einen weiteren Zyklus in einem evolutiven Biotechnologieverfahren eingesetzt werden.

Durch Kombination mit automatischen Sequenzierverfahren erlaubt das erfindungsgemäße Verfahren eine gute Abschätzung der Fitness-Landschaft, die eine bestimmte Mutante umgibt.

Patentansprüche

1. Trägermaterial, das simultan mindestens zwei Bindeeigenschaften aufweist zur jeweiligen spezifischen Bindung genotypischer Substanzen und phänotypischer Substanzen.
2. Trägermaterial nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß bestimmte Areale der Oberfläche des Trägermaterials jeweils die genotypischen Substanzen binden können, während die phänotypischen Substanzen von lokal getrennten Arealen der Oberfläche des Trägermaterials gebunden werden, oder ein und dasselbe Areal auf dem Trägermaterial die genotypischen und phänotypischen Substanzen bindet.
3. Trägermaterial nach einem der Ansprüche 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als genotypische Substanzen Nukleinsäuren und als phänotypische Substanzen Proteine oder Peptide simultan gebunden werden.
4. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die jeweiligen Areale zur Bindung der Geno- und Phänotypen einen Abstand von 10 bis 1000 µm, vorzugsweise 10 nm bis 100 µm, voneinander haben.
5. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Areale Ionenaustauscher-, Affinitätseigenschaften wie hydrophobe Wechselwirkungseigenschaften oder Komplexbildungseigenschaften oder Kombinationen davon aufweisen.
6. Trägermaterial nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß einer der Arealtypen Affinitätseigenschaften und der andere Arealtyp Ionenaustauschereigenschaften aufweist.
7. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Areal mit Affinitätseigenschaften reversible Wechselwirkungen mit dem gebundenen Geno- oder Phänotypen erlaubt, wodurch eine Elution mindestens eines gebundenen Molekültyps ermöglicht wird.

8. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Trägermaterial flächig auf einer Membran oder einem Membranverbund oder in einer Membran eingebettet, in einer Kapillare oder auf einer Faser oder in einem Faserverbund, wie Vliesen oder Kombinationen davon angeordnet ist.

9. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Material mit Affinitätseigenschaften und das Anionenaustauschermaterial in einer Matrix, wie Vliesen, angeordnet ist.

10. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das Areal mit Affinitätseigenschaften zur spezifischen Bindung mindestens eines Proteins oder Peptids fähig ist und gleichzeitig Nukleinsäuren binden kann.

11. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Areale Ionenaustauschereigenschaften aufweisen.

12. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Areale mit Anionenaustauschereigenschaften durch oberflächlich modifizierte groß- oder geschlossenenporige Partikel vermittelt wird.

13. Trägermaterial nach Anspruch 11 und/oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Areal mit Anionenaustauschereigenschaften noch bei einer Ionenstärke entsprechend 1 M NaCl DNA-Moleküle zu binden vermag.

14. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Areal mit Affinitätseigenschaften durch Biotinderivate, Streptavidinderivate, Avidinderivate, Nukleinsäuren, Antikörperfragmente, Metallchelate, Protein und/oder Peptidliganden gebildet wird.

15. Trägermaterial nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß das Areal mit Affinitätseigenschaften durch Metallchelate auf Basis von Nickel/Nitrilotriessigsäure Chelate gebildet werden und die Areale mit Anionenaustauschereigenschaften durch Materialien gebildet werden, die zur Bindung von Nukleinsäuren geeignet sind.

16. Verfahren zur evolutiven Optimierung von Biopolymeren, wobei gleichzeitig Genotyp und Phänotyp an ein Trägermaterial bindbar sind und selektiv oder gleichzeitig isolierbar sind.

17. Verfahren nach Anspruch 16, wobei in einem Reaktionsraum der den Genotyp repräsentierende Strukturtyp einer Mutagenese unterworfen wird, der Strukturtyp mindestens einem Replikationsschritt unterworfen, exprimiert,

das Expressionsprodukt zusammen mit dem Genotyp an das Trägermaterial gebunden und untersucht wird.